

原 著

肺結核症における気管支肺胞洗浄液の検討

福 島 喜代康 ・ 平 谷 一 人 ・ 門 田 淳 一
小 森 清 和 ・ 廣 田 正 毅 ・ 原 耕 平

長崎大学医学部第2内科

藤 田 紀 代 ・ 植 田 保 子 ・ 中 富 昌 夫

国立療養所長崎病院内科

受付 平成3年3月20日

ANALYSIS OF CELLULAR AND BIOCHEMICAL CONTENTS OF BRONCHO-ALVEOLAR
LAVAGE FLUID FROM PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

Kiyoyasu FUKUSHIMA*, Kazuhito HIRATANI, Jun-ichi KADOTA,
Kiyotaka KOMORI, Masaki HIROTA
and Kohei HARA

(Received for publication March 20, 1991)

To evaluate the local immune response in lung and activity of pulmonary tuberculosis. Broncho-alveolar lavage (BAL) was performed on 15 patients with pulmonary tuberculosis. Patients consisted of nine in the active stage and six in the inactive stage. Acid-fast bacilli (AFB) in BAL fluid (BALF) were found in six out of nine active stage patients (BAL-AFB positive group). The results obtained were as follows; 1) The number of total cells in BALF increased significantly in BAL-AFB positive group. BALF from two patients of this group, who were in the very early stage, revealed that the lymphocytes increased predominantly whereas neutrophils were dominant in BALF from the other four patients. 2) No case showed increase of B cells in BALF. Lymphocytes surface markers were compared between BAL-AFB positive and negative groups. No difference was found in the numbers of OKT3, OKT4 and OKT8. The positive rates of OKIa1, and OKT4/8 ratio were both increased in BALF compared to the BAL-AFB positive group. 3) The numbers of OKT4 and OKT4/8 ratio in peripheral blood, which were taken simultaneously with BAL, were decreased in patients in the active stage. 4) Protein, albumin, IgG, IgA, lysozyme and α 1-antitrypsin levels in BALF were all increased in tuberculous patients. No correlation between the activity of tuberculosis and levels of protein, albumin, IgG and IgA was observed. Lysozyme level increased in the inactive stage of patients. On the other hand α 1-antitrypsin level increased in the active stage. Fibronectin level in BALF from patients was lower than that from normal controls. 5) Smoking habit had no influence on the above results. 6) Only one case showed the appearance of new lesions after BAL

* From the Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine, 7-1 Sakamoto-machi Nagasaki 852 Japan.

procedure as a complication.

Key words : Broncho-alveolar lavage (BAL), Pulmonary tuberculosis, Disease activity, T-cell subsets, Lysozyme, Fibronectin

キーワード : 気管支肺胞洗浄 (BAL), 肺結核, 活動性, T細胞サブセット, リゾチーム, ファイブロンネクチン

緒言

気管支肺胞洗浄 (以下, BALと略す) は, 1974年 Reynoldsら¹⁾の開発以来広く普及し, 現在では種々の呼吸器疾患の診断・治療・研究に重要な武器となった^{2)~5)}。肺結核症においては, BAL液 (以下, BALFと略す) 中の抗酸菌の検出による診断法として主に用いられるが, その病態解明などに頻用されることは少ない。それは, 新病変散布後に本法を施行することの是非について, 議論の分かれることもその一因と推察される。

今回著者らは, 急性期を含めた肺結核症に対し, BALを施行し, 肺局所の免疫応答や活動性を評価するために細胞性および液性成分の分析を行い, 興味ある知見が得られたので報告する。

対象および方法

1) 対象症例

1985年10月より1986年3月までにBALを行った肺結核症15例である (表1)。BALFより結核菌が検出された6例と, BALF中結核菌陰性であるが, 喀痰中菌陽性であり, BAL部位以外の肺野に排菌を有する病巣が存在すると推定された3例 (胸部X線上, BAL部位は治療経過中陰影の改善がなく古い病巣と考えられた) を活動性結核とした。一方, すでに治療されて排菌を認めず, 陰影の変化もほとんどみられなくなった3例と, X線所見のみでBALFおよび喀痰より菌が検出さ

れず, 治療を要しないと考えられた3例を非活動性肺結核とした。

年齢は22歳から85歳と広く分布し, 平均は50.3歳であった。喫煙者は活動性肺結核で, BAL部位結核菌陽性群の6例中3例, 結核菌陰性群の3例中1例であり, また非活動性肺結核では6例中3例で, 各群で喫煙者と非喫煙者は相半ばしていた (表1)。

2) 方法

気管支ファイバーを目的とする部位の区域あるいは亜区域気管支に楔入し, 100mlの生食水を数回に分けて注入洗浄した。回収したBAL液は一括し, 4層ガーゼにて濾過した後, 2000回転10分間遠心し, 細胞成分と上清とに分離した。細胞成分は総細胞数を算定し, 一部は, サイトスピンドで塗抹標本を作成し, メイギムザ染色し細胞分類を行った (200個の細胞を算定)。残りはリンパ球表面マーカーの解析に用いた。上清はSRL社に依頼し, 10倍濃縮後, 各種液性成分を測定した。総蛋白はBiuret法, アルブミンはSRID法, 免疫グロブリンはTIA法, リゾチームは比濁法, ファイブロンネクチンはELISA法, $\alpha 1$ アンチトリプシンはTIA法によって測定した。対照として, 10名の若年男子健常者での値を用いた。

3) 統計処理

平均値の検定は, t検定を用いて行った。

結果

1) BALFの回収率と全細胞数

BAL部位結核菌陰性の病巣と陽性の病巣とに分けて, 表2および図1に示した。細胞数はBAL部位結核菌陽性の病巣で著増を認めた。活動性結核の中でもBAL部位の結核菌陰性群 (表2の*例) では, 細胞数の増加は認められなかった。また, 喫煙の有無での比較では, 細胞数に明らかな差異は観察されなかった (図1)。

2) BALF中の細胞分画

肺胞マクロファージ (M ϕ), リンパ球 (Ly), 多核白血球 (Np) の比率を結核菌陰性病巣9例と陽性病巣6例に分け, さらに後者のうちBAL施行前20日以内に散布が起こったことが確認された2症例を (A), その他の4例を (B) として図2に示した。結核菌陽性病巣では, M ϕ の比率が低く, 新散布病巣ではLyが, そ

表1 対象症例

活動性肺結核	9例	喫煙歴
BAL部位で結核菌陽性	6例	3例
BAL部位で結核菌陰性	3例	1例
非活動性肺結核	6例	
治療後	3例	0
非活動性	3例	3例
合計	15例	7例

表2 BALFの回収率および全細胞数

	回収率 (%)	細胞数 ($\times 10^6$ /Lavage)	細胞数 ($\times 10^5$ /Lavage)	喫煙歴
BALF中結核菌陰性の病巣				
1)	6.5	0.5	0.08	+
2)	5.5	1.5	0.27	-
3) *	6.5	3.0	0.46	-
4)	4.3	2.0	0.47	+
5)	5.8	7.0	1.2	-
6)	3.4	4.5	1.3	+
7) *	3.5	6.0	1.7	-
8) *	5.4	9.0	1.7	+
9)	3.3	6.0	1.8	-
BALF中結核菌陽性の病巣				
1)	6.5	18.0	2.8	+
2)	6.4	20.0	3.1	-
3)	4.0	24.0	6.0	-
4)	8.5	61.0	7.1	+
5)	6.7	100.0	14.9	-
6)	6.5	180.0	27.6	+

*活動性結核

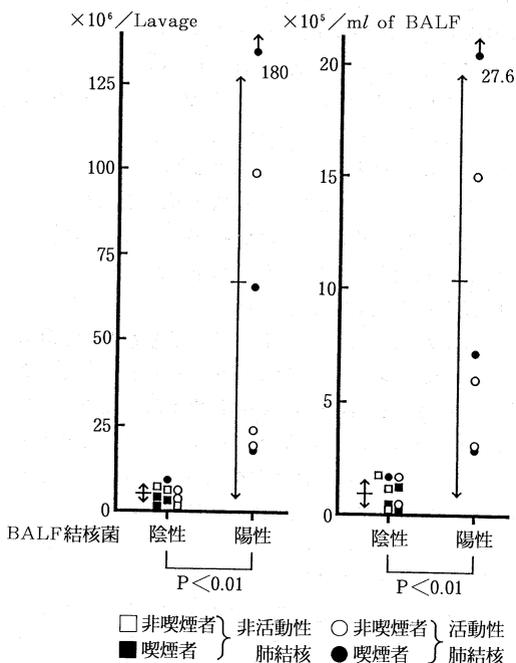


図1 BALF中の総細胞数

分画の比率(平均±SD)を比較すると、各々Mφは74.3±15.6%, 68.4±19.0%, Lyは6.3±4.0%, 12.8±7.0%, Npは19.5±17.1%, 21.4±15.8%であり、喫煙者は非喫煙者に比べてMφの比率がやや多く、Lyは少ない傾向がみられた。またNpはいずれでも同様に多かった。

3) BALF中のT-cell, B-cell分画

結核菌陽性病巣で増加していたリンパ球は、T-cellであり、B-cellはいずれの病巣でも少数のみしかみられなかった。また喫煙の有無との関連は、認められなかった(図3)。

4) BALF中のOKT3, OKT4, OKT8, OKIa1分画

図4に示したように結核菌陽性病巣では陰性病巣に比して、OKT4陽性細胞(OKT4と略す)は増加し、OKT8陽性細胞(OKT8と略す)は低下する傾向にあったが、OKT4/8比は両群に差がみられなかった。OKIa1分画は結核菌陽性病巣で有意に増加していた。また、結核菌陰性病巣では喫煙者のOKT8は非喫煙者よりも増加傾向であった。

5) 末梢血のT-cell, B-cell, OKT3, OKT4, OKT8, OKIa1分画

BALFと同時に採血した末梢血リンパ球の表面マーカー解析の結果を、活動性群と非活動性群に分けて図5に示した。OKT4は活動性群で有意に低く、OKT4/8有意に低値を示した。

の他ではNpが増加していた。

結核菌陰性病巣9例における喫煙者と非喫煙者の細胞

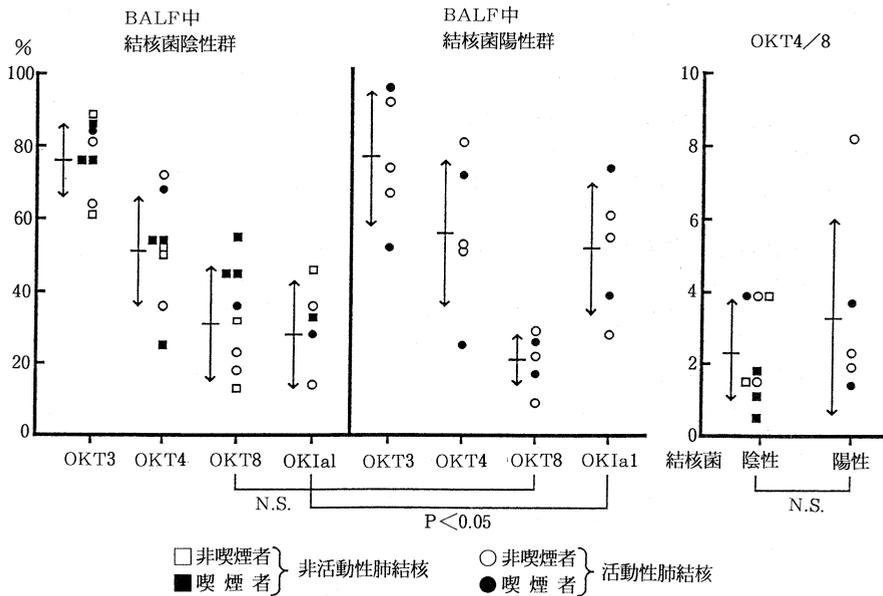


図4 BALF中のOKT3, 4, 8, OKIa1分画

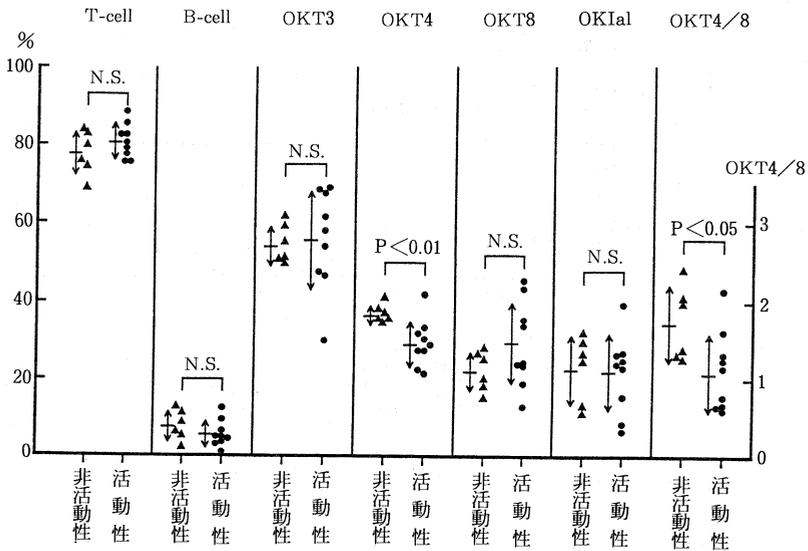


図5 末梢血のT-, B-cell, OKT3, 4, 8, OKIa1分画

結核病巣のシュープと発熱が活動性結核の1例（新散布巣症例以外のBAL部結核菌陽性例）にみられ、BALF結核菌陰性の1例に一過性の発熱（38℃台）がみられた。

考 察

活動性結核を含め、肺結核患者にBAL検査の適応が有るか否かについては議論の分かれるところである。そ

の点を考慮して今回著者らの行った方法においては、1) 病変部位でBALを行い、2) 注入量は通常の量より少なく総量100mlとし、3) 回収の悪い後方部位などでは体位の変換や咳嗽などにより、極力その多くを回収することに努めた。その結果十分に解析可能な回収率（33～85%、平均55.2%）を得ることができた。その副作用については15例中2例に発熱がみられ、1例でシュー

表3 末梢血、BALFにおけるTリンパ球サブセットの比較

		OKT3(%)	OKT4(%)	OKT8(%)	OKT4/8比
活動性結核 (n=8)	末梢血	55.5±13.6*	29.7± 6.2	28.9±11.6	1.19±0.52
	BALF	76.4±15.1	56.8±19.3	20.3± 6.0	3.24±2.22
非活動性結核 (n=5)	末梢血	54.9± 5.5	37.9± 2.5	21.8± 5.3	1.83±0.49
	BALF	78.0±10.8	47.1±12.3	37.8±16.2	1.68±1.32
健常対照 (n=10)	末梢血	70.0± 5.9	36.7± 7.1	29.6± 6.2	1.31±0.40
	BALF	77.2± 4.9	47.6± 7.1	36.2±11.7	1.46±0.57

*平均±SD

	T-P(mg/dl)	Albumin(mg/dl)
健常者 (n=10)	45.6±25.6	24.4±13.8
肺結核患者 (n=14)	420.5±452.9	191.4±184.4
活動性あり	523.2±558.9	219.8±186.9
活動性なし	283.6±238.0	153.9±191.2
BAL部位結核菌陽性	625.8±614.0	253.8±199.4
BAL部位結核菌陰性	266.5±220.1	144.6±170.1

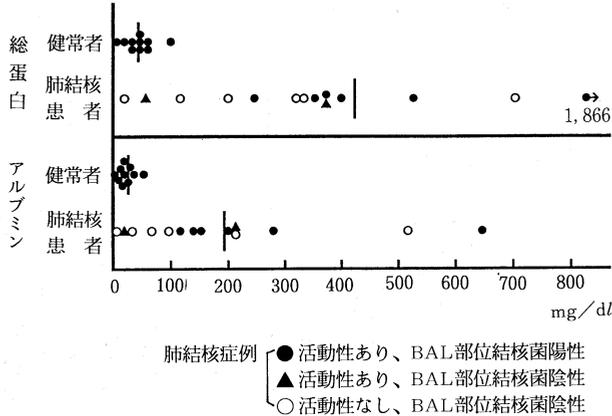


図6 BALF中の総蛋白、アルブミン濃度

ブがみられた。このシュープした症例は、新散布巣を有しない活動性の症例であり、抗結核剤の投与続行で改善したもの、BAL後はシュープの可能性も考え、慎重な経過観察が必要であろう。BALの副作用としての発熱は2.5%にみられるとされ³⁾、他の1例もそれに類するものと考えることが可能であろう。肺結核におけるBALは診断的意義が高いので、排菌がなく診断が困難な症例では、積極的にBALを施行すべきであると考え。その際、

1) BALの1~2日前から抗結核剤を投与し、

2) BALの1回量も症例により適宜変更し、

3) BAL後も十分な経過観察をするなどの注意が必要である。

次にBALFを解析する際、喫煙の因子が問題となるが、対象での喫煙者と非喫煙者の比率は1:1.14であり、各測定値は両群間で明らかな差異は認められなかった。

さて、今回最も興味深かったのは、結核菌陽性群において、新散布病巣ではリンパ球が、散布のない病巣では好中球が増加し、明確な違いがみられた点である。藤村ら⁶⁾も、X線所見で滲出型を示す3例ではリンパ球の

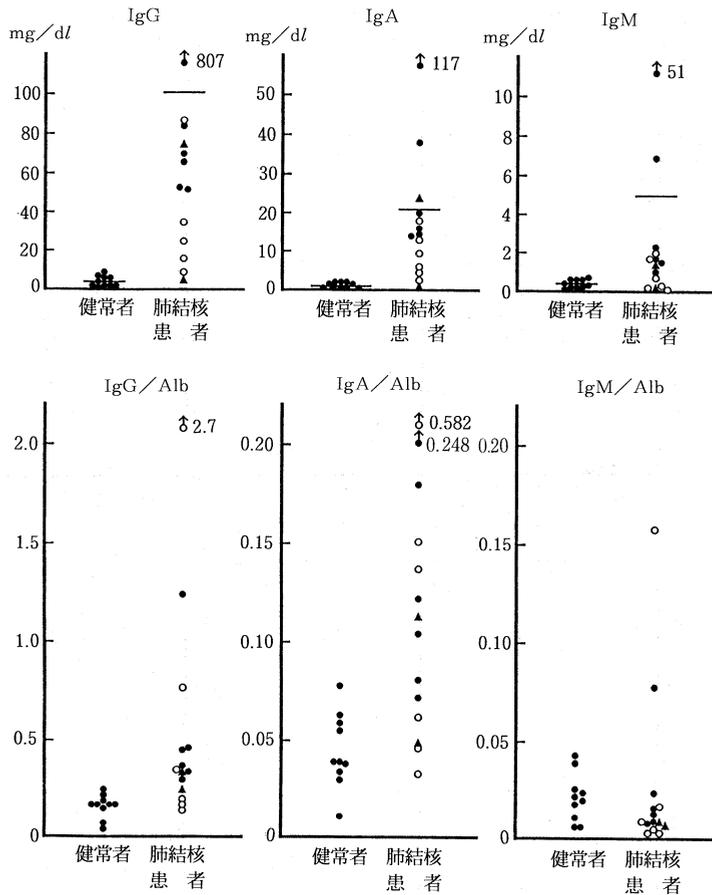


図7 BALF中のIgG, A, M濃度

増加がみられ、結核菌が検出されたBALFでは好中球が増加していたと述べている。しかし、抗結核療法施行中の排菌陰性患者のBALFではリンパ球が増加していたとの報告がみられており⁷⁾⁸⁾、かなり時間が経過した感作状態では、リンパ球が増加するようである。

病理所見と対比していないので、今回のBAL所見の意義付けは困難であるが、結核の進展過程より推察してみたい。まず、結核菌の侵入に続いて起こる急性期の生体反応は滲出性反応であり、ごく早期には好中球の遊出がみられ、ついで単核細胞の浸潤が変わっていくとされている⁹⁾。この滲出期にはまだ肉芽組織の形成はあっても少なく、病変と気管支の交通が保たれているため、活動性結核の新散布巣のBAL(2例)では多量のリンパ球が回収されたものと考えられた。さらに、乾酪化領域が軟化融解するには好中球の浸潤が加わり、好中球のもつライソゾーム酵素の働きが加わることが必要で、やや時間が経過した乾酪巣では、誘導気管支の開口部付近に好中球が浸潤し、そこから軟化が始まるとされる⁹⁾、こ

の際同時に菌の排出もみられる。したがってある程度時間が経過した病巣部でのBALでは、肉芽内の細胞よりも、気道に開かれた場所の好中球が回収されやすいのではないかと推定される。

また、結核の病変部では多かれ少なかれ気道の変形があり、続発する気道感染が存在することも考えられる。したがって先に認められた好中球の増加は非特異的なものである可能性は否定できない。事実、BALF中に結核菌が証明されない病巣において好中球の増加が認められる例があったが、好中球の増加の程度は結核菌が証明された病巣より、有意に低かった。すなわち、結核菌陽性病巣では結核に特異的は好中球増加がみられたものと推察され、結核病巣においては、好中球が重要な役割を担っていることを示唆する所見と考えられた。

菌陽性のBALF中にはT-cellの増加がみられた。また、その表面マーカーの検討では、OKIa1陽性細胞(活性化T細胞)が有意に増加しており、OKT4/8は増加傾向にあった。

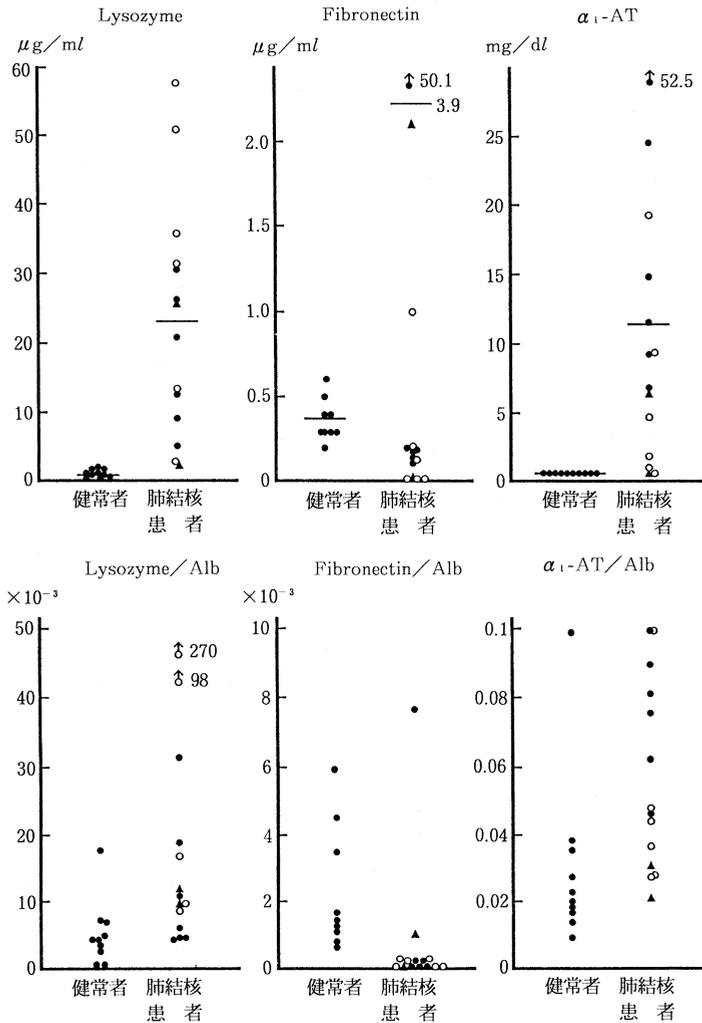


図8 BALF中のリゾチーム, ファイブロネクチン, α₁アンチトリプシン

一方、活動性結核と非活動性結核を比較すると、活動性結核ではBALF中のOKT4陽性細胞の増加の傾向とOKT8陽性細胞の低下傾向があり、したがってOKT4/8の高値傾向がみられた。

さらに、結核の散布直後の2例では、T-cellの増加(69%, 78%), OKT3(92.5%, 96.6%), OKT4(80.9%, 71.1%)とOKIaI(61.7%, 75.0%)の増加が著しかった。(2例中1例は右上葉全体に広範な散布がみられ、全身症状も強かった。)

高ら¹⁰⁾は、粟粒結核では全例リンパ球増多がみられ、OKT4優位の傾向をみたと報告しており、津田ら¹¹⁾は、手術標本での結核病巣を検討し、活動性病巣でOKT4/8の上昇、非活動性および安定化病巣でOKT4/8の低下がみられたとしている。病巣局所の病態を比較的好く示

していると思われる結核性胸水の所見では、OKT4/8は上昇しているとの報告が多い¹²⁾¹³⁾ことから、上記の散布性病変を有する症例のBALFで、OKT3, OKT4, OKIaIが著増し、OKT8が減少していたことは、Shiratsuchiら¹⁴⁾が、PPD刺激によりOKT4細胞やOKIaI陽性細胞が誘導されるという見解によく一致するものであった。

また、これらの症例の末梢血所見ではOKT3, OKT4, OKT8すべてに低下がみられたが、露口ら¹⁵⁾が結核性胸膜炎患者の末梢血でのPPD刺激に対する免疫アレルギー反応の低下を報告していると同様に、局所に急性の強い反応が生じたときには、少なくとも早期においては、担当細胞の末梢血から局所への動員があることも推測された。

肺や気道の感染では、BALF中の総蛋白、アルブミン、IgG、IgAは増加するとの報告⁷⁾¹⁶⁾¹⁷⁾が多い。私たちの今回の成績においても、これらの上昇がみられ、活動性の群で高い値を示した。

リゾチームは結核群で高かったが、この中で非活動性群が特に高い傾向を示した。BALF中の好中球数、リゾチーム値の間に相関は認められなかった。したがって、好中球から放出されるリゾチームの占める割合が少なかったことが推測される。ところで、安岡ら¹⁸⁾は、BALF中の好中球数とリゾチーム活性が相関していたことより、細菌性感染症における局所のリゾチーム活性の上昇は主に局所に浸潤した好中球に由来するとしている。したがって、このリゾチーム活性の差異より結核病巣における好中球の役割は細菌性肺炎、気管支炎などにおける好中球の役割と異なるものと推察される。結核病巣では主に気道系分泌物に由来したリゾチームの増加を示唆するのかもしれない。この点はさらに多症例での解明が必要であろう。

押谷ら¹⁹⁾は、重症感染症において血漿フィブロネクチンは有意に低下すると報告している。今回は血漿中のフィブロネクチンの測定は行わなかったものの、BALFでかなり低値を示したのは、局所でのフィブロネクチンが低下している可能性を示した。しかし、小林ら⁷⁾は排菌陰性例ではフィブロネクチンは高値であったとしており、BALの施行時期の問題かどうか今後検討すべき課題である。また、肺線維症におけるフィブロネクチンの重要性が論議されているが、結核病巣におけるフィブロネクチンの役割については、さらに検討が必要と思われる。

$\alpha 1$ アンチトリプシンは acute phase reactant の1つであり、感染症においても血中に増加することが知られている。今回の成績でも、BALFでこの増加がみられ、結核菌が存在していた病巣でとくに増加していたが、血清中での濃度の影響は否定できない。すなわち、Reynoldsら²⁾の報告のように、BALF値をアルブミン値で補正した値では、フィブロネクチンは1例のみ健常者より高いのみであった。Delacroixら²⁰⁾は、BALFの希釈度合いと血清中濃度の影響を減らすため、BALF中の液性成分を表示する方法として relative coefficient of excretion (RCE) を用い、

$$RCE = \frac{[\text{Protein}] \text{ secretion} \times [\text{Albumin}] \text{ serum}}{[\text{Protein}] \text{ serum} \times [\text{Albumin}] \text{ secretion}}$$

の数式を用いている。今回の検討では、血清中濃度の測定を同時に行わなかったため、RCEでの表現ができなかったが、BALF液性成分の解析には同時に血清中の値も測定し、このような表現法を試みることにより、より病態に即した解析が可能となるであろう。

以上、肺結核症におけるBALは、肺結核の診断、活

動性の評価、他疾患との鑑別診断などに有用であるばかりでなく、病態生理を解明する上でも重要と思われる、また比較的安全な検査であることを報告した。

(本論文の要旨は第38回日本結核病学会九州支部会および第62回日本結核病学会総会において発表した。)

文 献

- 1) Reynolds, H.Y. and Newball, H.H.: Analysis of proteins and respiratory cells obtained from human lungs by bronchial lavage, *J Lab Clin Med*, 84 : 559-573, 1974.
- 2) Reynolds, H.Y., Fulmer, J.D., Kazmierowski, J. A. et al.: Analysis of cellular and protein content of broncho-alveolar lavage fluid from fibrosis and chronic hypersensitivity pneumonitis, *J Clin Inv*, 59 : 165-175, 1977.
- 3) American Thoracic Society : Clinical role of bronchoalveolar lavage in adults with pulmonary disease, *Am Rev Respir Dis*, 142 : 481-486, 1990.
- 4) Klech, H. and Hutter, C.: Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL): Report of the European Society of Pneumology Task Group on BAL, *Eur Respir J*, 3 : 937-974, 1990.
- 5) 広田正毅, 横山 篤, 崎戸 修他: 各種呼吸器疾患における気管支肺胞洗滌液 (BAL) の検討—細胞成分の成績について—, *臨床と研究*, 63 : 2583-2587, 1986.
- 6) 藤村政樹, 黒木五郎, 橋場義則他: 肺結核の活動性を評価するための気管支肺胞洗浄 (BAL) によるアプローチ, *医療*, 38 : 577-581, 1984.
- 7) 小林英夫, 高橋英気, 岡田光子他: 肺結核症における病変部, 非病変部での気管支肺胞洗浄所見の比較検討 : 局所性肺疾患での非病変部における免疫・炎症反応, *気管支学*, 8 : 690-695, 1987.
- 8) 千田金吾, 佐藤篤彦 : 結核免疫における肺胞マクロファージの活性化状態と代謝からの考察, *結核*, 64 : 671-678, 1989.
- 9) 岩井和郎 : 結核病学 I 基礎・臨床編, 財団法人結核予防会, 東京, pp.120-132, 1985.
- 10) 高 光重, 中川 潤, 浜上小夜他: びまん性肺疾患における BAL の診断的有用性の検討, *日胸疾患誌*, 25 (増刊号) : 156, 1987.
- 11) 津田富康, 阿部康治, 杉崎勝教他: 単クローン抗体使用による結核病巣における炎症細胞の解析, *結核*,

- 62 : 479~488, 1987.
- 12) 原田泰子, 高本正祇, 原田 進他: 肺結核症における末梢血リンパ球サブセットの動態, 結核, 63 : 133~142, 1988.
 - 13) 高田勝利, 橋上 裕, 森下宗彦他: モノクローナル抗体による肺結核症の末梢血, および胸水中リンパ球分画の検討, 結核, 61 : 253~256, 1986.
 - 14) Shiratsuchi, H. and Tsuyuguchi, I.: Analysis of T-cell subsets by monoclonal antibodies in patients with tuberculosis after *in vitro* stimulation with purified protein derivative of tuberculin, Clin Exp Immunol, 57 : 271-278, 1984.
 - 15) 露口泉夫: ヒトと結核と免疫, 結核, 60 : 46~48, 1985.
 - 16) 安岡 劭, 坂本 崇, 大串文隆他: 気管支-肺胞洗浄液と気管支洗浄液に含まれる成分の比較分析, 日胸疾会誌, 21 : 340~348, 1983.
 - 17) 福田 博, 樫田祐一, 道端達也他: 慢性気管支炎患者における BALF 中の SOD 活性並びに TIC, EIC の検討, 日胸疾会誌, 25 (増刊号) : 156, 1987.
 - 18) 安岡 劭, 尾崎敏夫, 島田久夫他: 気管支-肺胞洗浄液に含まれているリゾチームの臨床意義に関する研究, 日胸疾会誌, 19 : 386~396, 1985.
 - 19) 押谷 浩, 小林宏行: フィブロネクチン (FN) と呼吸器疾患, 診断と治療, 73 : 2487~2489, 1985.
 - 20) Delacroix, D.L., Marchandise, F.X., Francis, C. et al.: Alpha-2-macroglobulin, monomeric and polymeric immunoglobulin A, and immunoglobulin M in bronchoalveolar lavage, Am Rev Respir Dis, 132 : 829-835, 1985.